

2. Abe J-i., Berk B. C. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. // Trends Cardiovasc. Med. - 1998. - V.8. - P.59-64.
3. Cotgreave I.A. N-Acetylcysteine: pharmacological consideration and experimental and clinical applications // Adv. Pharmacol. - 1997. - V.38. - P.205-227.
4. Harrison D.G. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction // J. Clin. Invest. - 1997. - Vol.100, N 9. - P.2153-2157.
5. Muller B., Kleschyov A., Malblanc S., Stoclet J.C. N-acetylcysteine sensitive nitric oxide storage in lipopolysaccharide-treated rat aorta // J. Vasc. Res. - 1997. V.34, S.1. - A.098.
6. Suzuki Y.J., Ford G.D. Redox regulation of signal transduction in cardiac and smooth muscle // J. Mol. Cell Cardiol. - 1999. - Vol.31. - P.345-353.

## АНАЛИЗ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ НАРАБОТКОЙ ОКСИДА АЗОТА И КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ГЛЮКОЗЫ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАЗВУКА IN VITRO

**Чайковская Н.А., Максимович Н.Е.**

*Институт биохимии НАН Беларуси, г. Гродно,  
Государственный медицинский университет, г. Гродно*

### *Введение*

Ультразвук (УЗ) широко используется в медицине для лечения многих заболеваний и клинической диагностики. Во время ультразвукового воздействия энергия передается в ткань через какую-либо контактную среду, например, гель, который наносится на поверхность кожи. Это способствует тому, что в области контакта излучателя с тканью возникают резкие максимумы интенсивности и могут быть получены высокие дозы излучения. По мнению некоторых авторов терапевтический эффект УЗ обусловлен его влиянием на кровоток, проявляющийся усилением кровообращения в органе, на который осуществляется воздействие[2]. Однако известно, что ультразвук провоцирует свободнорадикальные процессы in vivo. Известно, что химические эффекты сонолиза связаны с образованием кавитационных пузырьков, в которых происходит диссоциация паров воды на ОН- и Н- радикалы [4]. Образовавшиеся первичные кислородные свободные радикалы (КСР) взаимодействуют как между собой, так и с растворенными газами и образуют

наряду с пероксидами водорода значительное количество оксида азота (NO), а также нитритов, нитратов. В литературе имеются данные о возможности протекания кавитационных явлений в крови при использовании ультразвуковых приборов терапевтического назначения [2-4]. Известно, что в присутствии спиртов или аминокислот наблюдается уменьшение образования кислородных свободных радикалов. Можно предположить, что при воздействии ультразвуком в крови повышается концентрация ряда веществ свободно радикальной природы, в том числе и NO, что может приводить к формированию дисфункции эндотелия. Известно, что прогрессирование дисфункции эндотелия резко ухудшает адаптивные реакции сосудов организма и при атеросклерозе, сахарном диабете и других состояниях может привести к развитию сосудистых осложнений. Например, в крови больных сахарным диабетом наиболее часто изменяется уровень глюкозы. Работ о влиянии глюкозы на образование NO мы в литературе не обнаружили.

Целью нашей работы было исследование взаимодействия глюкозы и некоторых других сахаров с КСР, образующимися в УЗ-поле.

#### *Материалы и методы исследования*

Водные растворы сахаров подвергали воздействию ультразвукового поля с частотой волн 880 кГц (интенсивность 1 Вт/см<sup>2</sup>), 3200 кГц (интенсивность 1 Вт/см<sup>2</sup>). УЗ-волны с частотой 880 кГц создавали генератором ультразвука УТП-1, 3200 кГц – терапевтическим аппаратом УЗТ-3.02 Д. Время озвучивания выбиралось, исходя из условий эксперимента. Нитриты в растворе определяли с помощью реактива Грисса (растворы сульфаниловой кислоты и  $\alpha$ -нафтиламина). Коэффициент экстинкции  $\gamma_{520\text{nm}} = 3,41 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ . Нитраты восстанавливали, используя пластинки металлического кадмия. Пероксиды водорода в растворе определяли с помощью 1М раствора йодида калия. Коэффициент экстинкции  $\gamma_{350\text{nm}} = 2,6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ см}$ . Спектры поглощения записывали на спектрофотометре "Specord M-40" (Германия).

#### *Результаты и их обсуждение*

Озвучивание воды ультразвуком с частотой 880 кГц в течение 1 мин приводит к образованию 5 мкМ нитрита. Такой же выход NO<sub>2</sub> зафиксировали при частоте сонолиза 3200 кГц за 4 мин. Соотношение концентраций H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/нитрит составило 1,0-1,1 для 880 кГц и 0,65-0,75 для 3200 кГц. Добавление в воду глюкозы в различных концентрациях приводило к снижению выхода нитрита при сонолизе с частотой 3200 кГц вплоть до практически полной остановки образования нитрита, начиная с концентрации в растворе 1,5-2,0 мМ (табл. 1).

Таблица 1

**Образование  $\text{NO}_2^-$  в водных растворах глюкозы, фруктозы, сахарозы при воздействии ультразвуком с частотой 880 кГц и 3200 кГц в зависимости от концентрации сахаров в растворе**

Конц. сахар. 10 <sup>-5</sup> М	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкМ					
	глюкоза		сахароза		фруктоза	
	Частота ультразвука (кГц)					
	3200	880	3200	880	3200	880
0	5	5	5	5	5	5
5	4,8	5,6	5	5	5	5
10	4,5	6,2	5	5	5	5
20	3,6	7,7	5	5	5	5
40	2	9,5	5	5	5	5
60	1	10,5	5	5	5	5
80	0,5	11,5	5	5	5	5
100	0,2	12,1	5	5	5	5
150	0,1	13	5	5	5	5
200	0,05	13,7	5	5	5	5
400	0,01	14,5	5	5	5	5
5000	0,001	10,5	5	5	5	5

Напротив, при частоте сонолиза 880 кГц концентрация  $\text{NO}_2^-$  возрастала, а  $\text{H}_2\text{O}_2$  снижалась. Возрастание концентрации глюкозы в растворе до 2-3 мМ, привело к изменению соотношения  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NO}_2^-$  (0,5-0,6). За это время озвучивания концентрация нитратов не превышала 0,2 мкМ как при частоте 880 кГц, так и при частоте 3200 кГц. Ни сахароза, ни фруктоза не оказывали влияния на выход нитрита при сонолизе. По-видимому, изменение концентрации КСР в растворе объясняется не наличием у глюкозы спиртовых групп, которые также имеются у сахарозы и у фруктозы, а связано с альдегидной группой глюкозы. Известно, что оксид азота при сонолизе может образовываться в результате последовательных реакций как азота с кислородом, так и азота с гидроксильным радикалом. Дальнейшее взаимодействие оксида азота с гидроксильным радикалом приводит к появлению в водных растворах  $\text{NO}_2^-$  (возрастание нитрита в растворе при 880 кГц). Мы предполагаем, что при частоте 880 кГц доминирует второй путь образования  $\text{NO}$ , а при 3200 – первый. Глюкоза в растворе может находиться в альдегидной форме, концентрация которой составляет 0,02-0,03 % от общего количества глюкозы [5]. При сонолизе *in vitro* концентрация альдегида в растворе возрастает, мы предполагаем, что этот процесс прямо зависит от частоты сонолиза. Взаимодействие альдегида глюкозы с  $\text{OH}^-$  приводит к уменьшению концентрации пероксида водорода, образованию пероксида глюкозы и, как следствие, снижению выхода  $\text{NO}_2^-$  (уменьшение концентрации нитрита в растворе при 3200 кГц). При частоте ультра-

звука 880 кГц уменьшение в растворе нитрита становится заметным только при достаточно высокой концентрации глюкозы –  $5 \cdot 10^{-2}$  М.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что воздействие на водные растворы ультразвуком *in vitro* с частотой 3200 кГц приводит к уменьшению наработки свободных радикалов, что может быть использовано в клинической практике у больных с повышенным содержанием оксида азота в крови. Применение ультразвука с частотой 880 кГц может вызвать возрастание в крови  $\text{NO}_2^-$  даже при физиологических концентрациях глюкозы и привести к локальному повреждению тканей, и, в частности, эндотелия сосудов.

Таким образом установлено, что концентрация глюкозы в крови может существенно модифицировать наработку NO, что следует учитывать при назначении УЗ процедур при сахарном диабете.

#### *Литература*

1. Palmer, R.M.J., Bridge, L., Foxwell, N.A., and Moncada, S.- Br. J. Pharmacol. –1992. – V.105. - P.11-12.
2. Saad A.H., Bahakim H.M., Helmi A., Bashaandi A.M., Lim L.K. Ultrasound Med. Biol.- 1986. –V.12. - P.855-863.
3. Гришанова А.Ю., Зуева Т.В. // Билирубин как эндогенный посредник в активации экспрессии *cyp1a1* под действием ультразвука // Вопросы медицинской химии. - 2000.- № 2.
4. Эльпинер И.Е. Биофизика ультразвука.- М.: Наука.- 1973.
5. Мецлер Д. Биохимия. - М.: Мир, 1980.-Т.3.- С.1500.

### **БИОХИМИЧЕСКИЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ У КРЫС**

**Шабанов П.Д., Ключева Н.Н., Мещеров Ш.К.**

*Российская военно-медицинская академия, г. Санкт-Петербург*

Многие патологические состояния, характеризующиеся нарушением обучения и памяти (в результате сосудистых, травматических, инфекционных заболеваний, старения), сопровождаются значительными изменениями липидного обмена и прежде всего холестерина. Данных о значении нарушений липидного обмена в генезе мнестических расстройств сравнительно немного. В большинстве своем это клинико-психологические наблюдения, действительно показывающие снижение памяти лиц с выраженным атеросклерозом мозговых сосудов [4-6]. С другой стороны, существует довольно большая литература о влиянии условнорефлекторной деятельности на липидный обмен [1, 2]. В ней